

申請者	学科名	栄養学科	職名	助教	氏名	神崎 圭太
調査研究課題	L-アルギニンの摂取が運動後に低下した筋力を早期に回復させるメカニズム					
調査研究組織	氏名	所属・職		専門分野	役割分担	
	代表	神崎 圭太	栄養学科・助教	運動・栄養生理学	収縮負荷, 筋力測定, 生化学的分析全般	
	分担者	和田 正信	広島大学大学院総合科学研究科・教授	筋生理学	スキンドファイバーを用いた解析	
		渡邊 大輝	広島大学大学院総合科学研究科・日本学術振興会特別研究員DC2	筋生理学	スキンドファイバーを用いた解析	
	川上 祐生 高橋 吉孝	栄養学科・准教授 栄養学科・教授	食品生化学 病態生化学	生化学的分析 研究総括		
調査研究実績の概要	<p>1. 背景・目的</p> <p>運動後に筋力低下が数日間継続する主な原因は、主動筋に伸張性収縮が負荷されることにある。これまでに我々は、1) 伸張性収縮が負荷されたラット骨格筋では、筋力発揮に関わるタンパク質の分解や、これらのタンパク質を基質とするカルパインの活性化がみられること、および2) カルパイン阻害剤を投与すると、タンパク質分解が抑制され、収縮後に低下した筋力が早期に回復することを確認している。この知見はカルパインによる筋タンパク質分解が、伸張性収縮後に筋力低下が継続する原因の1つであることを示している。</p> <p>昨年度の研究において、我々は、L-アルギニンの摂取によっても、カルパインの活性化が阻害され、伸張性収縮後に低下した筋力が早期に回復するという興味深い知見を得た。L-アルギニンから産生される一酸化窒素は、S-ニトロシル化を介してカルパインの活性化や活性を阻害することが報告されている。そこで本研究では、L-アルギニンの摂取により、カルパインのS-ニトロシル化が増加するかを検討した。また、伸張性収縮後に興奮・収縮連関のどの部位に機能低下が起こるのか、およびL-アルギニンの摂取によりどの部位の機能低下が軽減されるのかを、メカニカルスキンドファイバーを用いて解析した。</p> <p>2. 方法</p> <p>被験動物にはWistar系雄性ラットを用い、これらをコントロール (CON) 群とアルギニン (ARG) 群に分類した。ARG群には収縮負荷の3日前から、1日あたり500 mg/kg体重のL-ARGを自由飲水投与した。投与開始3日後に坐骨神経からの電気刺激と伸展装置を用いて、下腿前部の筋 (前脛骨筋と長趾伸筋) に200回の伸張性収縮を負荷した。収縮3日後に前脛骨筋を摘出し、カルパイン-1のS-ニトロシル化およびメカニカルスキンドファイバーの分析に供した。</p>					

3. 結果および考察

カルパイン-1のS-ニトロシル化の程度は、SNO-RAC法を用いて分析した。SNO-RAC法では、アスコルビン酸処理で-SNO基を-SH基に還元したタンパク質を、Thiopropyl-Sepharose 6Bとの反応で回収することにより、ウエスタンブロット法で目的のタンパク質のニトロシル化の程度を評価することが可能である。図AとBに示したように、カルパイン-1のS-ニトロシル化の程度は、CON群に比べてARG群の安静（Rest）脚および収縮（ECC）脚で有意な高値を示した。S-ニトロシル化されたカルパインは、自己分解（活性化の指標）が起りにくくなることや、活性が低下することが報告されている。これらの知見から、L-ARGの摂取により、伸張性収縮後のカルパイン-1の自己分解の増加や筋タンパク質分解の増加が軽減される原因の1つは、カルパイン-1のS-ニトロシル化が増加することにあると推察される。

メカニカルスキンドファイバーを用いた分析では、脱分極誘因性張力および最大Ca²⁺活性化張力を測定した。図CとEに示したように、最大Ca²⁺活性化張力（Max）に伸張性収縮およびL-ARG摂取の影響はみられなかった。一方、脱分極誘因性張力（Depol）は、CON群およびARG群において、安静脚に比べ収縮脚が低値を示したが、収縮脚の筋力は、CON群に比べARG群の張力が高値を示した（図C, D）。これらの結果は、1) 伸張性収縮後の筋力低下の原因は、筋原線維の機能低下ではなく、筋小胞体からのCa²⁺放出の低下にあること、および 2) L-ARGの摂取により筋力低下が軽減される原因の1つは、筋小胞体からのCa²⁺放出の低下が軽減されることにあることを示唆するものである。

調査研究実績
の概要

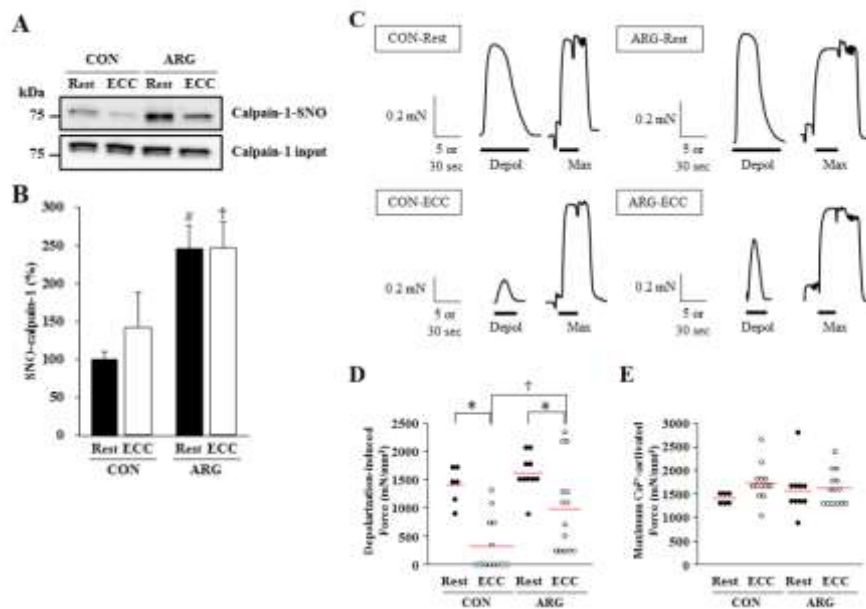


図 L-アルギニンの摂取が伸張性収縮3日後のカルパイン-1のS-ニトロシル化 (A, B)、脱分極誘因性張力および最大Ca²⁺活性化張力 (C-E) に及ぼす影響。CON, コントロール群; ARG, アルギニン群; Rest, 安静脚; ECC, 収縮脚; Depol, 脱分極誘因性張力; Max, 最大Ca²⁺活性化張力。*P<0.05 vs Rest, #P<0.05 vs CON-Rest, †P<0.05 vs CON-ECC.

成果資料目録

1. L-アルギニンの摂取が伸張性収縮後の骨格筋の機能低下に及ぼす影響。神崎圭太, 渡邊大輝, 川上祐生, 高橋吉孝, 和田正信。第71回日本体力医学会大会。盛岡市。
2. L-arginine administration attenuates eccentric contraction-induced force depression in rat fast-twitch muscles. Keita Kanzaki, Daiki Watanabe, Yuki Kawakami, Masanobu Wada, Yoshitaka Takahashi. The 10th Joint Conference on Nutrition and Food Science. Daejeon, Korea.